



Рapid Био

Быстрая диагностика

Инструкция по применению медицинского изделия

Набор реагентов
для качественного определения
антител классов G и M к вирусу гепатита С
методом иммуноферментного анализа

«РАПИД-НСV-АТ-ИФА»

для диагностики *in vitro*
по ТУ 21.20.23-025-44090553-2024

1. НАЗНАЧЕНИЕ

1.1. Полное наименование медицинского изделия

Набор реагентов для качественного определения антител классов G и M к вирусу гепатита С методом иммуноферментного анализа «РАПИД-НСV-АТ-ИФА» для диагностики *in vitro* по ТУ 21.20.23-025-44090553-2024. Далее по тексту – «РАПИД-НСV-АТ-ИФА», набор реагентов, медицинское изделие, набор реагентов «РАПИД-НСV-АТ-ИФА», изделие.

1.2. Назначение набора

Набор реагентов «РАПИД-НСV-АТ-ИФА» предназначен для качественного определения антител классов G и M к вирусу гепатита С методом иммуноферментного анализа в сыворотке, плазме крови человека, а также в препаратах крови человека (альбумин, иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат).

Набор может быть использован для скрининга, в том числе на станциях переливания крови и в комплексной специфической лабораторной диагностике вирусного гепатита С. Предназначен для «ручной» постановки и для постановки на автоматических ИФА-анализаторах.

1.3. Состав медицинского изделия

Набор реагентов «РАПИД-НСV-АТ-ИФА» выпускается в семи базовых вариантах исполнения:

- 1. Комплекты № 1.1 и 2.1 рассчитаны на проведение анализа 96 образцов сыворотки, плазмы крови человека, включая контрольные образцы;
 - 2. Комплекты № 1.2 и 2.2 рассчитаны на проведение анализа 192 образцов сыворотки, плазмы крови человека, включая контрольные образцы;
 - 3. Комплекты № 1.3 и 2.3 рассчитаны на проведение анализа 480 образцов сыворотки, плазмы крови человека, включая контрольные образцы;
 - 4. Комплект № 3 рассчитан на проведение анализа 96 образцов сыворотки, плазмы крови человека и препаратов крови человека, включая контрольные образцы.
- Возможно дробное использование набора.

Таблица 1

Наименование (сокращенное название) и характеристика компонента набора	Компонентов в наборе						
	Комплект №1.1	Комплект №1.2	Комплект №1.3	Комплект №2.1	Комплект №2.2	Комплект №2.3	Комплект №3
Микропланшет разборный (МТП) Состоит из двенадцати восьмилучных стрипов с иммобилизованными на внутренней поверхности лунок рекомбинантными антигенами, представляющими собой иммунодоминантные регионы структурных (core) и неструктурных белков вируса гепатита С (NS3, NS4, NS5), в рамке.	1	2	5	1	2	5	1

Положительный контрольный образец (К+) Содержит антитела к гепатиту С. Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость красного цвета. Готов к использованию.	1 фл.* x 1,5 мл	1 фл. x 3,0 мл	2 фл. x 3,0 мл	1 фл. x 1,5 мл	1 фл. x 3,0 мл	2 фл. x 3,0 мл	1 фл. x 1,5 мл
Отрицательный контрольный образец (К-) Не содержит антитела к гепатиту С. Прозрачная жидкость зеленого цвета. Готов к использованию.	1 фл. x 2,5 мл	2 фл. x 2,5 мл	3 фл. x 4,0 мл	1 фл. x 2,5 мл	2 фл. x 2,5 мл	3 фл. x 4,0 мл	1 фл. x 2,5 мл
(25х) концентрат для приготовления промывочного буферного раствора ((25х) ПБР) (25х) концентрат фосфатно-солевого буферного раствора с твином. Прозрачная или опалесцирующая бесцветная жидкость.	1 фл. x 40,0 мл	2 фл. x 40,0 мл	2 фл. x 100,0 мл	1 фл. x 40,0 мл	2 фл. x 40,0 мл	2 фл. x 100,0 мл	1 фл. x 40,0 мл
Раствор для разведения препаратов крови (РРП) Прозрачная или опалесцирующая жидкость оранжевого цвета. Готов к использованию.	—	—	—	—	—	—	1 фл. x 70 мл
Раствор для разведения конъюгата-1 (РРК-1) Опалесцирующая жидкость фиолетового цвета. Готов к использованию.	1 фл. x 8,0 мл	2 фл. x 8,0 мл	2 фл. x 20,0 мл	—	—	—	1 фл. x 8,0 мл
Раствор для разведения конъюгата-2 (РРК-2) Опалесцирующая жидкость зеленого цвета. Готов к использованию.	1 фл. x 14,0 мл	2 фл. x 14,0 мл	5 фл. x 14,0 мл	1 фл. x 14,0 мл	2 фл. x 14,0 мл	5 фл. x 14,0 мл	1 фл. x 14,0 мл
(101х) концентрат конъюгата-1 ((101х) Кг-1) Рекомбинантные антигены вируса гепатита С, меченые биотином. Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость синего цвета.	1 мпр.* x 0,2 мл	1 мпр. x 0,5 мл	1 мпр. x 1,0 мл	—	—	—	1 мпр. x 0,2 мл
Конъюгат-1 (Кг-1) Рекомбинантные антигены вируса гепатита С, меченые биотином. Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость розового цвета. Готов к использованию.	—	—	—	1 фл. x 9,0 мл	2 фл. x 9,0 мл	5 фл. x 9,0 мл	—

((101х) концентрат конъюгата-2 ((101х) Кг-2) Стрептавидин, меченый пероксидазой хрена. Прозрачная жидкость с желтым оттенком.	1 мпр. x 0,2 мл	1 мпр. x 0,5 мл	1 мпр. x 1,0 мл	1 мпр. x 0,2 мл	1 мпр. x 0,5 мл	1 мпр. x 1,0 мл	1 мпр. x 0,2 мл
((11х) концентрат тетраметилбензидина ((11х) ТМБ) Содержит 3,3',5,5'-тетраметилбензидин (0,025 %) и перекись водорода (0,001 %). Прозрачная или слегка опалесцирующая бесцветная жидкость.	1 фл. x 1,5 мл	1 фл. x 3,0 мл	1 фл. x 7,5мл	—	—	—	1 фл. x 1,5 мл
Цитратно-фосфатный буферный раствор (ЦФБ) Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию.	1 фл. x 14,0 мл	2 фл. x 14,0 мл	5 фл. x 14,0 мл	—	—	—	1 фл. x 14,0 мл
Раствор тетраметилбензидина (ТМБ) Стабилизированный водно-органический буферный раствор, содержащий ТМБ и пероксид водорода. Прозрачная бесцветная или светло-голубого цвета жидкость. Готов к использованию.	—	—	—	1 фл. x 14,0 мл	2 фл. x 14,0 мл	5 фл. x 14,0 мл	—
Стоп-реагент 0,5М раствор серной кислоты. Прозрачная бесцветная жидкость. Готов к использованию.	1 фл. x 13,0 мл	1 фл. x 26,0 мл	2 фл. x 26,0 мл	1 фл. x 13,0 мл	1 фл. x 26,0 мл	2 фл. x 26,0 мл	1 фл. x 13,0 мл
Клейкие пленки для заклеивания планшетов Изделие для запечатывания планшетов по ТУ 32.50.50-009-48072026-2022: 1. Пленка клейкая для планшетов с одной насечкой, РУ № РЗН 2022/19122	2	4	10	2	4	10	2
Наконечники одноразовые к дозаторам пипеточным Наконечник универсальный для пипеточных дозаторов по ТУ 32.50.50-002-72241324-2018: 1. Наконечник объемом до 250 мкл универсальный, нейтральный, 1001, РУ № РЗН 2019/9159	16	32	80	16	32	80	16

Планшет для предварительного разведения образцов Планшет иммунологический по ТУ 32.50.50-003-01813981-2020: 7. Планшет иммунологический (разборный) 96 лунок, РУ № РЗН 2021/16228	—	—	—	—	—	—	1
Ванночки для реагентов Изделия полимерные для медицинских лабораторий по ТУ 32.50.50-001-01813981-2018: 1. Ванночка для реагентов (для многоканальных пипеток-дозаторов) вместимостью 30 мл (артикул Т-0100), РУ № РЗН 2019/8202	2	4	10	2	4	10	2
Инструкция по применению	1	1	1	1	1	1	1

*фл. — флакон;

**мпр. — микропробирка.

К+ и К- содержат натрия мертиолят 0,01 %.

РРК-1, РРК-2 содержат натрия мертиолят 0,001 % и Proclin 0,03 %.

Примечание: (25х) ПБР, РРП, ЦФБ и стоп-реагент, клейкие пленки для заклеивания планшетов, наконечники одноразовые к дозаторам пипеточным, планшет для предварительного разведения образцов, ванночки для реагентов являются универсальными вспомогательными компонентами для всех иммуноферментных тест-систем производства ООО «РАПИД БИО».

1.4. Область применения медицинского изделия

Клиническая лабораторная диагностика, включая, но не ограничиваясь: медицинские организации, клиничко-диагностические лаборатории, станции переливания крови, научно-исследовательские учреждения, имеющие лицензию на оказание медицинских услуг.

Только для профессионального использования.

Только для диагностики *in vitro*.

1.5. Показания и противопоказания к применению

Предназначен для применения по назначению. Противопоказания и побочные действия отсутствуют.

1.6. Потенциальные потребители

Набор реагентов «РАПИД-НСV-АТ-ИФА» применяется врачами-специалистами клиничко-диагностических лабораторий и медицинскими лабораторными техниками.

1.7. Клиническое назначение

Вирусный гепатит С (ВГС) — это инфекционное антропонозное заболевание, вызываемое вирусом гепатита С, с преимущественно парентеральным механизмом передачи, характеризующееся поражением печени, безжелтушным, лёгким или среднетяжёлым течением в острой фазе и частой склонностью к хронизации, развитию цирроза печени и первичной гепатоцеллюлярной карциномы [1, 2].

Вирус гепатита С (Hepatitis C virus, HCV) — РНК-содержащий вирус рода Hepacivirus се-

мейства Flaviviridae. Вирус состоит из нуклеокапсида, состоящего из сердцевинного (ядерного) белка (НСVcAg) и одноцепочечной РНК, и белково-липидной оболочки, содержащей аполипопротеин Е (апоЕ) человека и вирусные белки Е1 и Е2. Вирусный геном кодирует 10 различных белков, среди которых 3 структурных (апоЕ, Е1, Е2) и 7 неструктурных (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) [1, 2, 3].

Вариабельность генома вируса обуславливает изменения в строении антигенных детерминант, которые определяют выработку специфических антител. Это препятствует элиминации вируса из организма и созданию эффективной вакцины против ВГС [3, 4, 6].

Источником инфекции является больной человек. Наиболее значимым является парентеральный путь передачи (при употреблении внутривенных наркотических препаратов, медицинских манипуляциях, травмирующих косметических процедурах, включая маникюр и педикюр, нанесение татуировок и установку пирсинга), существенно реже — половой и вертикальный пути передачи [1, 3, 5].

Специфическая лабораторная диагностика, включающая определение антител к HCV методом иммуноферментного анализа (ИФА) на этапе скрининга, является обязательной для подтверждения этиологического фактора заболевания как критерий установления диагноза ВГС [1, 7].

1.8. Информация о стерильности

Набор реагентов «РАПИД-НСV-АТ-ИФА» не содержит стерильных компонентов.

1.9. Описание измерительных характеристик и программного обеспечения

Не применимо.

Набор реагентов «РАПИД-НСV-АТ-ИФА» не автоматизирован и не содержит программного обеспечения.

1.10. Популяционные, демографические аспекты применения медицинского изделия

Предназначен для обследования всех групп населения. Популяционные, демографические особенности применения медицинского изделия отсутствуют.

1.11. Классификация медицинского изделия

Код Общероссийского классификатора продукции по видам экономической деятельности ОКПД2 — 20.59.52.195.

Класс потенциального риска применения медицинского изделия в соответствии с номенклатурной классификацией (по Приказу Минздрава России от 06.06.2012 N 4н) — 3.

Вид медицинского изделия — 286460 «Вирус гепатита С общие антитела ИВД, набор, иммуноферментный анализ (ИФА)».

1.12. Риски применения медицинского изделия

Риски применения набора реагентов «РАПИД-НСV-АТ-ИФА» проанализированы в соответствии с ГОСТ ISO 14971.

Все риски, связанные с изделием, снижены до приемлемого уровня с помощью мер управления рисками. В области недопустимой зоны риски не выявлены.

Польза применения набора реагентов «РАПИД-НСV-АТ-ИФА» превалирует над рисками для пациента, производящего и эксплуатирующего персонала, третьих лиц и окружающей среды. Полный остаточный риск является допустимым.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ

2.1. Описание принципа метода

Метод выявления антител классов G и M к вирусу гепатита C основан на использовании двухстадийного «сэндвич» варианта твердофазного ИФА.

При наличии в исследуемых образцах антител к структурным (Core) и неструктурным белкам вируса гепатита C (NS3, NS4, NS5) данные антитела связываются одновременно с рекомбинантными белками, иммобилизованными на поверхности лунок планшета и рекомбинантным антигеном вируса, меченным биотином из конъюгата-1, добавленного в эту же лунку.

Не связавшиеся компоненты удаляются промывкой.

В ходе последующей стадии анализа с образовавшимся иммунным комплексом, содержащим биотин, связывается стрептавидин, меченый пероксидазой хрена, из добавленного на данном этапе конъюгата-2.

После отмывки не связавшихся компонентов происходит визуализация результата добавлением хромогена к комплексу «антиген-антитело-детектирующий антиген-стрептавидин-HRP» с развитием окрашивания раствора в лунке, интенсивность которого прямо зависит от количества антител в образце. После остановки реакции добавлением стоп-реагента проводится учет результатов анализа путем измерения оптической плотности с помощью планшетного спектрофотометра при длинах волн 450 нм (основная) и 620–650 нм (вспомогательная).

2.2. Необходимые материалы и оборудование, не входящие в комплект

- термостат, позволяющий проводить инкубацию при $(45 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- термостат-шейкер со скоростью вращения платформы 400-800 об/мин, поддерживающий температуру $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ и $(45 \pm 1)^\circ\text{C}$;
- спектрофотометр вертикального сканирования позволяющий проводить измерения оптической плотности в лунках планшета при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения в диапазоне 620-655 нм;
- холодильник бытовой;
- промывочное устройство для планшетов;
- пипетки одноканальные со сменными наконечниками с изменяемым объемом отбора жидкостей: на 5–50 мкл; на 20–200 мкл; на 200–1000 мкл; на 1000–5000 мкл, аттестованные по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- пипетка восьмиканальная со сменными наконечниками, позволяющая отбирать объемы жидкости до 300 мкл, аттестованная по значению средней дозы и сходимости результатов пипетирования (погрешность не более 3%);
- центрифуга лабораторная на 1800-2200 g;
- дистиллированная или деионизированная вода;
- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 500 мл;
- стакан стеклянный вместимостью 1000 мл;
- перчатки резиновые или перчатки медицинские одноразовые;

- бумага фильтровальная лабораторная;
- дезинфицирующие средства, разрешенные к применению СанПин 3.3686, кроме хлор-содержащих.

Для постановки с использованием автоматического ИФА-анализатора, зарегистрированного на территории РФ:

- Анализатор с рабочей площадкой под размещение планшетов;
- Спектральный диапазон: 400 – 700 нм;
- Предусмотренный производителем для работы с наборами реагентов различных производителей с программным обеспечением, позволяющим корректировать протокол исследования пользователем и реализовывать любую методику, определяя качественные и количественные характеристики материалов.

Например, испытания набора проведены на автоматическом иммуноферментном анализаторе «Анализатор иммуноферментный автоматический «Лазурит» (LAZURITE)», производитель «Дайнекс Текнолоджис», США, № ФСЗ 2009/03660.

2.3. Информация о наличии в медицинском изделии лекарственного средства, материалов животного и (или) человеческого происхождения

В состав набора «РАПИД-НСV-АТ-ИФА» не входят лекарственные препараты, фармацевтические субстанции и материалы животного происхождения.

Плазма крови человека и компоненты плазмы крови, входящие в состав контрольных материалов (К+ и К-), инаktivированы.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Чувствительность

Чувствительность набора реагентов определяли с использованием следующих материалов:

- Набор образцов сывороток крови, содержащих и не содержащих антитела к вирусу гепатита С «Анти-ВГС стандартная панель сывороток» по ТУ 9398-365-23548172-2012, производства АО «Вектор-Бест», РУ № РНЗ 2013/587. Чувствительность набора составила 100%.
- Контрольные образцы стандартной панели предприятия СПП «РАПИД-НСV-АТ-ИФА». Чувствительность набора составила 100%.

3.2. Специфичность

Специфичность набора определяется по контрольным образцам стандартной панели предприятия (СПП «РАПИД-НСV-АТ-ИФА»), которые не содержат антитела к структурным (core) и неструктурным белкам вируса гепатита С, как процентное содержание отрицательных образцов, определенных набором к общему количеству истинно отрицательных образцов, и составляет 100%.

3.3. Перекрестная реактивность

Перекрестная реактивность не наблюдалась при тестировании образцов, содержащих HBsAg, антитела к *Borrelia burgdorferi*, *Chlamydia trachomatis*, *Mycoplasma hominis*, *Trichomonas vaginalis*, возбудителю ВИЧ-инфекции, HSV1, HSV2, CMV, вирусу Эпштейн-Барра, *Treponema pallidum*, вирусам краснухи, гриппа А и В, микобактериям туберкулеза, токсоплазме, SARS-

СоV-2, а также образцов, полученных от беременных женщин и образцов пациентов с положительным ревматоидным фактором.

3.4. Интерференция

Интерференция не наблюдалась при исследовании образцов сыворотки/плазмы, содержащих интерферирующие вещества: гемоглобин в концентрации до 200 г/л, билирубин — до 300 мг/л, триглицериды — до 250 мг/дл, молочную кислоту до 400 мг/мл, холестерол — до 40 г/л, глюкозу — до 2,0 г/л, общий белок в концентрации до 160 г/л, ацетилсалициловую кислоту — до 1,5 мг/мл; аскорбиновую кислоту — до 0,4 мг/мл, янтарную кислоту — до 0,5 мг/мл, альфа-интерферон в концентрации до 4000 МЕ/мл, рибавирин — до 1,8 мг/мл, биотин — до 5 мг/л.

В рамках проведения клинических испытаний влияние антикоагулянтов (К2ЭДТА, К3ЭДТА, Li-гепарин, Na-гепарин, цитрат натрия) на результаты анализа не выявлено.

3.5. Воспроизводимость

Внутрисерийный и межсерийный коэффициент вариации измерения оптической плотности не превышает 8 %.

3.6. Хук-эффект

Для оценки хук-эффекта высоких концентраций, который может приводить к получению ложноотрицательных результатов тестирования, были исследованы образцы сыворотки крови с высоким титром антител к вирусу гепатита С в неразведенном виде и в разведении 1/10. В результате тестирования не выявлено увеличение ОП образцов в разведении 1/10 по сравнению с неразведенными образцами, следовательно, хук-эффект не наблюдался.

3.7. Диагностические характеристики

Для подтверждения диагностических характеристик было исследовано 1804 биологических образца сыворотки и плазмы крови, препаратов крови человека. По результатам проведенных испытаний диагностическая чувствительность «РАПИД-НСV-АТ-ИФА» составила 100 % (с доверительной вероятностью 95 %, доверительный интервал 99,7-100 %), диагностическая специфичность — 100 % (с доверительной вероятностью 95 %, доверительный интервал 99,8-100 %).

Дополнительно диагностическая чувствительность исследовалась при тестировании 2 коммерческих сероконверсионных панелей производства SeraCare, США. В панели «AccuVert™ HCV Seroconversion Panel PHV926 (0610-0225)» с генотипом 3а два из пяти образцов показали положительный результат, в панели «AccuVert™ Seroconversion Panel PHV919 (0610-0217)» с генотипом 1а четыре из семи образцов показали положительный результат.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Лабораторная диагностика вирусного гепатита С в субъектах Российской Федерации может проводиться в лабораториях организаций, имеющих санитарно-эпидемиологическое заключение на работу с возбудителями III-IV групп патогенности с использованием методов диагностики, не предполагающих накопление возбудителя, соответствующие условия работы и обученный персонал.

Взятие, транспортировка и хранение клинического материала должны осуществляться согласно МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории», утвержденным Роспотребнадзором, и Рекомендациям «Организация преаналитического этапа при централизации лабораторных исследований», одобренным профильной комиссией Минздрава России по клинической лабораторной диагностике 30.05.2013.

Требования к условиям и процедурам ведения преаналитического этапа клинических лабораторных исследований с целью исключения или ограничения влияния эндогенных, экзогенных, ятрогенных и иных факторов, мешающих правильному отражению состояния внутренней среды обследуемых пациентов в результатах клинических лабораторных исследований описаны в ГОСТ Р 53079.4-2008 «Технологии лабораторные клинические. Обеспечение качества клинических лабораторных исследований. Часть 4. Правила ведения преаналитического этапа».

Все компоненты набора, содержащие в своем составе материалы человеческого происхождения, инаktivированы.

Все компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

Растворы, содержащие тетраметилбензидин (раствор ТМБ, (11х) ТМБ)), растворы конъюгатов являются светочувствительными и должны быть защищены от света.

Стоп-реагент, раствор ТМБ, (11х) ТМБ и ЦФБ обладают раздражающим действием на кожу и слизистые. В случае контакта с кожей и/или слизистыми промойте большим количеством проточной воды и при необходимости обратитесь за медицинской помощью.

Не используйте реагенты после истечения срока их действия.

Не смешивайте компоненты из разных серий наборов реагентов «РАПИД-НСV-АТ-ИФА» за исключением универсальных вспомогательных компонентов. Совместное использование набора реагентов с компонентами наборов других производителей запрещено.

5. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

5.1. Анализируемые образцы

Для проведения анализа используются образцы сыворотки/плазмы крови и препараты, приготовленные из крови человека (альбумин, иммуноглобулины, интерфероны, криопреципитат). Лиофильно высушенные препараты предварительно приготовить, восстановив согласно инструкции по их применению, затем провести стандартный иммуноферментный анализ по методике, описанной в инструкции.

Минимальный объем исследуемого образца сыворотки/плазмы крови 40 мкл. Антикоагулянты (К2ЭДТА, К3ЭДТА, Li-гепарин, Na-гепарин, цитрат натрия) и активатор свертывания не влияют на результаты анализа.

Образцы сыворотки/плазмы крови допускается хранить не более 7 суток при температуре от +2 °С до +8 °С. Длительное хранение (до 6 месяцев) анализируемых образцов осуществлять при температуре минус 20 °С.

Замороженные образцы перед исследованием необходимо довести до комнатной температуры (от +18 °С до +25 °С), тщательно перемешать для устранения возникающего при замораживании градиента концентраций. При работе с размороженными образцами следует

учитывать, что каждый следующий цикл замораживания и размораживания снижает качество исследуемого материала. Рекомендуется однократное замораживание и размораживание образцов с целью получения достоверных результатов исследования, а также хранение нескольких замороженных аликвот образца.

Не допускается использование для исследования образцов с повышенным содержанием липидов и (или) с признаками гемолиза, и (или) с видимым микробным проростом.

Мутные образцы перед анализом необходимо отцентрифугировать в течение 10-15 мин при 1800 – 2200 g.

5.2. Подготовка к анализу

Привести все компоненты набора к комнатной температуре перед использованием.

МТП, К+, К-, ЦФБ, РРП, РРК-1, РРК-2, Кг-1, раствор ТМБ и стоп-реагент – готовы к использованию.

При дробном использовании набора реагентов оставшиеся реагенты плотно закрыть соответствующими крышками, а планшет повторно упаковать в оригинальный пакет с силикагелем, удалив воздух нажатием, и тщательно закрыть замок. Хранить при температуре от +2 °С до +8 °С в течение срока годности. (25х) ПБР и стоп-реагент допускается хранить при комнатной температуре.

5.2.1. Приготовление промывочного буферного раствора

Во флаконе с (25х) ПБР может присутствовать осадок солей. В этом случае перед использованием рекомендуется прогреть флакон при температуре от +30 °С до +40 °С до полного растворения осадка и перед разведением охладить до комнатной температуры. В зависимости от числа используемых стрипов внести в мерный цилиндр необходимый объем концентрата (25х) ПБР и довести его очищенной водой до объема, указанного в Таблице 2.

Таблица 2

Количество стрипов Реагент	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
(25х) ПБР, мл	3	7	10	13	17	20	23	27	30	33	37	40
Вода очищенная, мл	до 75	до 175	до 250	до 325	до 425	до 500	до 575	до 675	до 750	до 825	до 925	до 1000

Готовый рабочий промывочный раствор хранить при температуре от +2 °С до +8 °С не более шести месяцев, при температуре от +18 °С до +26 °С – не более 30 сут.

5.2.2. Приготовление растворов конъюгата-1 и конъюгата-2 из (101х) концентратов конъюгатов

Внимание! Не использовать концентраты конъюгатов разных комплектов и разных серий. Рекомендуется готовить рабочий раствор непосредственно перед использованием.

При использовании всего планшета внести необходимые объемы концентрата (101х) конъюгата-1 в РРК-1 и (101х) конъюгата-2 в РРК-2 в соответствии с таблицей 3, тщательно перемешать раствор, не допуская вспенивания.

При дробной постановке применять соотношение объемов концентрата (101х) конъюгата-1 и РРК-1, (101х) конъюгата-2 и РРК-2, указанных в таблице 3, в зависимости от количества используемых стрипов. Готовить раствор необходимо в чистой (желательно одноразовой) емкости с использованием одноразовых наконечников для дозаторов.

Таблица 3

Количество стрипов Реагент	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Приготовление рабочего раствора конъюгата-1												
(101х) конъюгат-1, мкл	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
РРК-1, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Приготовление рабочего раствора конъюгата-2												
(101х) конъюгат-2, мкл	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
РРК-2, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Готовый раствор конъюгата хранить при температуре от +18 °С до +26 °С в защищенном от воздействия прямого солнечного света месте не более 12 часов, неиспользованный вскрытый флакон с концентратом (101х) конъюгата хранить в течение срока годности реагентов при температуре от +2 °С до +8 °С в плотно закрытом флаконе.

5.2.3. Приготовление субстратного раствора для комплектов № 1.1, 1.2, 1.3 и 3

Готовить непосредственно перед использованием в месте, защищенном от воздействия прямого солнечного света.

При использовании всего планшета внести 1,4 мл концентрата (11х) ТМБ в 14,0 мл ЦФБ, тщательно перемешать раствор, не допуская вспенивания.

При дробной постановке применять соотношение объемов концентрата (11х) ТМБ и ЦФБ, указанных в Таблице 4, в зависимости от количества используемых стрипов. Готовить раствор необходимо в чистой (желательно одноразовой) емкости с использованием одноразовых наконечников для дозаторов.

Таблица 4

Количество стрипов Реагент	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
(11х) ТМБ, мкл	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200
ЦФБ, мл	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Готовый субстратный раствор хранить при температуре от +18 °С до +26 °С в защищенном от воздействия прямого солнечного света месте не более 12 часов. Неиспользованный вскрытый флакон с концентратом (11х) ТМБ хранить в течение срока годности набора реагентов при температуре от +2 °С до +8 °С в плотно закрытом флаконе.

5.2.4. Подготовка исследуемых образцов

5.2.4.1. Подготовка образцов сыворотки/плазмы крови

В случае проведения анализа с использованием замороженных образцов, пробирки предварительно разморозить при температуре от +2 °С до +8 °С. Образцы после разморозки тщательно перемешать.

5.2.4.2. Подготовка препаратов крови

Лиюфилизированные препараты крови перед исследованием предварительно восстановить согласно инструкции по их применению.

Препараты крови перед проведением анализа необходимо развести в два раза раствором для разведения (РРП) (например, к 60 мкл РРП, предварительно внесенного в лунки планшета для предварительных разведений, добавить 60 мкл исследуемых препаратов крови, тщательно перемешать). РРП перед применением необходимо взболтать.

5.2.5. Подготовка микропланшета (МТП)

1. Привести МТП к комнатной температуре.
2. Рассчитать количество стрипов, необходимых для анализа.
3. Вскрыть пакет с планшетом выше замка «zip-lock», установить в рамке планшета необходимое количество стрипов. Оставшиеся стрипы упаковать в оригинальный пакет с силикагелем, удалив воздух нажатием, и хранить при температуре от + 2 °С до + 8 °С в течение всего срока годности набора.

5.3. Проведение анализа

5.3.1. Процедура анализа по протоколу № 1 для комплектов № 1.1, 1.2, 1.3 и 3

1. Внести во все лунки МТП по 60 мкл приготовленного согласно таблице 3 рабочего раствора конъюгата-1.
2. Далее в лунки МТП необходимо внести следующие образцы, тщательно перемешивая пипетированием:
 - в лунку A1 — 40 мкл K+;
 - в лунки B1 и C1 — по 40 мкл K-;
 - в остальные лунки — по 40 мкл сыворотки/плазмы или предварительно разведенных в два раза препаратов крови (см. п.5.2.4.2 «Подготовка препаратов крови»);

Примечание: процедура внесения образцов по времени не должна превышать 15 минут от момента внесения первого образца.

3. Заклеить стрипы МТП клейкой пленкой.
4. Инкубировать в орбитальном термощейкере со скоростью вращения платформы 500 об/мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 40 минут.
5. По окончании инкубации снять клейкую пленку и промыть 4 раза лунки планшета, внося не менее 350 мкл промывочного буферного раствора. При использовании промывочного устройства время между заполнением и аспирацией лунок должно быть не менее 30 секунд. По окончании промывки избавиться от остатков жидкости, постучав перевернутым планшетом о поверхность стола, покрытую фильтровальной бумагой.
6. Внести в каждую лунку МТП по 100 мкл приготовленного согласно таблице 3 рабочего

раствора конъюгата-2.

7. Заклеить стрипы МТП клейкой пленкой.
8. Инкубировать в термошейкере со скоростью вращения платформы 500 об/мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 20 минут.
9. По окончании инкубации снять клейкую пленку и промыть 4 раза лунки планшета, как описано в пункте 5.
10. Внести в каждую лунку МТП по 100 мкл предварительно приготовленного субстратного раствора (см. п.5.2.3. «Приготовление субстратного раствора для комплектов № 1.1, 1.2, 1.3 и 3»).
11. Инкубировать в течение 20 минут при температуре от $+18^\circ\text{C}$ до $+26^\circ\text{C}$ в защищенном от света месте.
12. Остановить реакцию внесением в каждую лунку МТП по 100 мкл содержимого флакона «Стоп-реагент». Перемешать содержимое лунок легким постукиванием по рамке планшета.
13. Провести измерение оптической плотности (ОП) растворов в лунках МТП при двух длинах волн 450 нм (основная) / 620 – 650 нм (сравнения) в течение 5 минут после остановки реакции.

5.3.2. Процедура анализа по протоколу № 2 для комплектов № 2.1, 2.2 и 2.3

1. Внести во все лунки МТП по 60 мкл конъюгата-1.
2. Далее в лунки МТП необходимо внести следующие образцы, тщательно перемешивая пипетированием:
 - в лунку A1 – 40 мкл K+;
 - в лунки B1 и C1 – по 40 мкл K-;
 - в остальные лунки – по 40 мкл сыворотки/плазмы;

Примечание: процедура внесения образцов по времени не должна превышать 15 минут от момента внесения первого образца.

3. Заклеить стрипы МТП клейкой пленкой.
4. Инкубировать в орбитальном термошейкере со скоростью вращения платформы 700 об/мин при температуре $(45 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 40 минут.
5. По окончании инкубации снять клейкую пленку и промыть 4 раза лунки планшета, внося не менее 350 мкл промывочного буферного раствора. При использовании промывочного устройства время между заполнением и аспирацией лунок должно быть не менее 30 секунд. По окончании промывки избавиться от остатков жидкости, постукав перевернутым планшетом о поверхность стола, покрытую фильтровальной бумагой.
6. Внести в каждую лунку МТП по 100 мкл приготовленного согласно таблице 3 рабочего раствора конъюгата-2.
7. Инкубировать в термошейкере со скоростью вращения платформы 700 об/мин при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 20 минут.
8. По окончании инкубации снять клейкую пленку и промыть 4 раза лунки планшета, как описано в пункте 5.
9. Внести в каждую лунку МТП по 100 мкл готового раствора ТМБ и инкубировать в течение 20 минут при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

10. Остановить реакцию внесением в каждую лунку МТП по 100 мкл содержимого флакона «Стоп-реагент». Перемешать содержимое лунок легким постукиванием по рамке планшета.
11. Провести измерение оптической плотности (ОП) растворов в лунках МТП при двух длинах волн 450 нм (основная) / 620 – 650 нм (сравнения) в течение 5 минут после остановки реакции.

Примечание: перед измерением ОП убедитесь, что синий цвет жидкости полностью сменился на желтый, и раствор в лунках хорошо перемешался.

Общие рекомендации к процедуре проведения анализа

- Храните все реагенты при температуре от +2 °С до +8 °С.
- НЕ ДОПУСКАЙТЕ высыхания ячеек во время процедуры.
- Для точного измерения дозирование проб и контролей должны быть максимально точными. Используйте только хорошо откалиброванное оборудование.
- Всегда заранее имейте под рукой реагенты, подготовленные для следующего шага.

5.4. Учёт результатов

Результаты ИФА регистрировать с помощью спектрофотометра, измеряя оптическую плотность (ОП) при основной длине волны 450 нм и длине волны сравнения 620-650 нм. Выведение спектрофотометра на «нулевой» уровень осуществлять по воздуху.

Рассчитать ОП_{крит} по формуле:

$$\text{ОП}_{\text{крит}} = \text{ОП}(\text{К-})_{\text{ср}} + 0,2, \quad (1)$$

где ОП(К-)ср – среднее значение ОП в лунках с К-.

Результаты ИФА учитываются только при следующих условиях:

- значение ОП для К+ не менее 0,8;
- среднее значение ОП для К- не выше 0,15.

При несоответствии полученных результатов заданным условиям исследование необходимо повторить.

Для оценки степени позитивности исследуемых образцов может быть рассчитан коэффициент позитивности (КП) по формуле:

$$\text{КП} = \text{ОП}_{\text{обр}} / \text{ОП}_{\text{крит}}, \quad (2)$$

где ОП_{обр} – значение оптической плотности исследуемых образцов,

ОП_{крит} – пороговое значение, рассчитанное по формуле (1).

Интерпретация результатов

- Исследуемый образец учитывать, как положительный, если значение КП данного образца больше 1,1;
- Исследуемый образец учитывать, как сомнительный, если значение КП данного образца больше 0,9 и меньше 1,1;
- Исследуемый образец учитывать, как отрицательный, если значение КП данного образца меньше 0,9.

5.5. Постановка с использованием ИФА-анализатора

Подготовить прибор в соответствии с инструкцией по его эксплуатации, ввести программу анализа, соответствующую используемому набору, и провести анализ.

6. ОГРАНИЧЕНИЕ МЕТОДА

Надежные и воспроизводимые результаты будут получены, если процедура анализа осуществляется при точном следовании положениям данной инструкции.

Данный набор реагентов может быть использован на этапе постановки диагноза ВГС в комплексе с другими клиническими, лабораторными и инструментальными методами исследований [1,3,7].

Процедуры промывки и удаления лишней жидкости являются обязательными. Недостаточная промывка приведет к низкой точности и завышению оптической плотности образцов.

7. ТРАНСПОРТИРОВАНИЕ И ХРАНЕНИЕ

Набор реагентов «РАПИД-НСV-АТ-ИФА» должен храниться при температуре от +2 °С до +8 °С в холодильных камерах или в холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим в течение всего срока годности. Срок годности медицинского изделия – 24 месяца. Набор реагентов с истекшим сроком годности применению не подлежит.

В случае дробного использования набора реагентов, после первого вскрытия оригинальной упаковки неиспользованные компоненты следует хранить следующим образом:

- оставшиеся неиспользованными стрипы необходимо тщательно упаковать в оригинальный пакет с замком и хранить при температуре от +2 °С до +8 °С в течение всего срока годности набора;
- все реагенты после вскрытия флаконов следует хранить при температуре от +2 °С до +8 °С в течение всего срока годности набора. (25х) ПБР и стоп-реагент допускается хранить при комнатной температуре до +26 °С.

Транспортировать медицинское изделие при температуре от +2 °С до +8 °С в крытых транспортных средствах в соответствии с правилами перевозок, действующими на транспорте данного вида. Допускается транспортирование при температуре до +26 °С не более 20 суток.

Изделия, транспортированные с нарушением температурного режима, применению не подлежат.

8. УТИЛИЗАЦИЯ

При использовании медицинского изделия образуются отходы классов А, Б, которые обеззараживаются и утилизируются в соответствии с СанПиН 2.1.3684 [8].

Использованные наборы медицинского изделия, имевшие и не имевшие контакт с биологическим материалом, следует обеззараживать и утилизировать, как медицинские отходы класса Б.

Неиспользованные наборы реагентов перед утилизацией следует разукomплектовать. Компоненты набора: (25х) ПБР, РРП, РРК-1, РРК-2, (11х) ТМБ, ТМБ, ЦФБ, вкладыш, клейкие пленки для заклеивания планшетов, наконечники одноразовые к дозаторам пипеточным, планшет для предварительного разведения образцов, ванночки для реагентов, упаковка и инструкция по применению утилизируются, как отходы класса А. Все остальные компоненты набора: МТП, К+, К-, (101х) Кг-1, Кг-1 и (101х) Кг-2 следует утилизировать, как отходы класса Б.

9. ТЕХНИЧЕСКОЕ ОБСЛУЖИВАНИЕ И РЕМОНТ

Медицинское изделие техническому обслуживанию и ремонту не подлежит.

10. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ И ПРАВИЛА ПРЕДОСТАВЛЕНИЯ
РЕКЛАМАЦИЙ

Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие медицинского изделия требованиям технических условий при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения, указанных в эксплуатационной документации предприятия – изготовителя.

Срок годности медицинского изделия составляет 24 месяца с даты изготовления.

Медицинское изделие с истёкшим сроком годности применению не подлежит.

По вопросам обращения медицинского изделия просьба обращаться к производителю. При выявлении побочных действий, не указанных в инструкции по применению, нежелательных реакций при применении, особенностей взаимодействия медицинских изделий между собой, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации, необходимо направлять сообщение, содержащее указанные сведения производителю.

11. КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Производитель:

Общество с ограниченной ответственностью «РАПИД БИО» (ООО «РАПИД БИО»).

Адрес юридического лица: Россия, 670000, Республика Бурятия, г. Улан-Удэ, ул. Свердлова, 13А, офис 4, +7 495 105 99 16, info@rapidbio.ru, www.rapidbio.ru

Место производства медицинского изделия:

Общество с ограниченной ответственностью «РАПИД БИО» (ООО «РАПИД БИО»).

Россия, 121205, г. Москва, территория инновационного центра «Сколково», Большой бульвар, д. 42, стр.1.

12. СИМВОЛЫ, ПРИМЕНЯЕМЫЕ ПРИ МАРКИРОВКЕ МЕДИЦИНСКОГО
ИЗДЕЛИЯ

Символ	Описание	Символ	Описание
	Изготовитель		Использовать до
	Дата изготовления		Код партии
	Температурный диапазон		Номер по каталогу

Символ	Описание	Символ	Описание
	Не допускать воздействия влаги	(25x)ПБР	(25x) концентрат для приготовления промывочного буферного раствора
	Не допускать воздействия солнечного света	РРК-1	Раствор для разведения конъюгата-1
	Осторожно	РРК-2	Раствор для разведения конъюгата-2
	Обратитесь к инструкции по применению	(101x)Кг-1	(101x) концентрат конъюгата-1
IVD	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>	(101x)Кг-2	(101x) концентрат конъюгата-2
	Хрупкое, обращаться осторожно	Кг-1	Конъюгат-1
	Содержимого достаточно для проведения n тестов	ЦФБ	Цитратно-фосфатный буферный раствор
МТП	Микропланшет разборный	ТМБ	Раствор тетраметилбензидина
К+	Положительный контрольный образец	РРП	Раствор для разведения препаратов крови
К-	Отрицательный контрольный образец	(11x)ТМБ	(11x) концентрат тетраметилбензидина

Символ	Описание	Символ	Описание
ПЛАНШЕТ	Планшет для предварительного разведения образцов Планшет иммунологический по ТУ 32.50.50-003-01813981-2020: 7. Планшет иммунологический (разборный) 96 лунок, РУ № РЗН 2021/16228	ПЛЁНКА	Клейкие пленки для заклеивания планшетов Изделие для запечатывания планшетов по ТУ 32.50.50-009-48072026-2022: 1. Пленка клейкая для планшетов с одной насечкой, РУ № РЗН 2022/19122
ВАННОЧКА	Ванночки для реагентов Изделия полимерные для медицинских лабораторий по ТУ 32.50.50-001-01813981-2018: 1. Ванночка для реагентов (для многоканальных пипеток-дозаторов) вместимостью 30 мл (артикул Т-0100), РУ № РЗН 2019/8202	НК	Наконечники одноразовые к дозаторам пипеточным Наконечник универсальный для пипеточных дозаторов по ТУ 32.50.50-002-72241324-2018: 1. Наконечник объемом до 250 мкл универсальный, нейтральный, 1001, РУ № РЗН 2019/9159

13. ЛИТЕРАТУРА

1. Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Хронический вирусный гепатит С», 2021 г.
2. Инфекционные болезни и эпидемиология: Учебник / В.И. Покровский, С.Г. Пак, Н.И. Брико, Б.К. Данилкин. — 3-е изд. — М.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. — 1008 с.: ил.
3. Клинические рекомендации Европейской ассоциации по изучению болезней печени (EASL): Тактика ведения пациентов с инфекцией, вызванной вирусом гепатита С, 2013 г.
4. Applegate T.L., Fajardo E., Sacks J.A.. Hepatitis C Virus Diagnosis and the Holy Grail. Infect Dis Clin North Am. 2018 Jun;32(2):425-445. doi: 10.1016/j.idc.2018.02.010. PMID: 29778264.
5. Martinez M.A., Franco S. Therapy Implications of Hepatitis C Virus Genetic Diversity. Viruses. 2020 Dec 29;13(1):41. doi: 10.3390/v13010041. PMID: 33383891; PMCID: PMC7824680.
6. Maness D.L., Riley E, Studebaker G. Hepatitis C: Diagnosis and Management. Am Fam Physician. 2021 Dec 1;104(6):626-635. PMID: 34913652.
7. Приказ Минздрава России от 07.11.2012 N 685н «Об утверждении стандарта специализированной медицинской помощи при хроническом вирусном гепатите С».

8. СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению населения, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий».

14. ПЕРЕЧЕНЬ ПРИМЕНЯЕМЫХ ПРОИЗВОДИТЕЛЕМ (ИЗГОТОВИТЕЛЕМ) МЕДИЦИНСКОГО ИЗДЕЛИЯ НАЦИОНАЛЬНЫХ СТАНДАРТОВ

1. ГОСТ Р 51088-2013 «Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Реагенты, наборы реагентов, тест-системы, контрольные материалы, питательные среды. Требования к изделиям и поддерживающей документации»;
2. ГОСТ Р 51352-2013 «Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Методы испытаний»;
3. ГОСТ Р ИСО 15223-1-2023 «Изделия медицинские. Символы, применяемые для передачи информации, предоставляемой изготовителем. Часть 1. Основные требования»;
4. ГОСТ Р ИСО 18113-2-2015 «Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 2. Реагенты для диагностики *in vitro* для профессионального применения»;
5. ГОСТ Р ИСО 18113-1-2015 «Медицинские изделия для диагностики *in vitro*. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1. Термины, определения и общие требования»;
6. ГОСТ Р ИСО 23640-2015 «Изделия медицинские для диагностики *in vitro*. Оценка стабильности реагентов для диагностики *in vitro*».

Внимание! Приступать к процедуре проведения анализа только после ознакомления с инструкцией по применению набора.

«РАПИД-НСV-АТ-ИФА» КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

Протокол № 1 для комплектов № 1.1, 1.2, 1.3 и 3

1	Внести	в лунки МТП по 60 мкл приготовленного рабочего раствора конъюгата-1 непосредственно перед добавлением контрольных и исследуемых образцов
2	Внести	в одну лунку – 40 мкл К+, в две другие – 40 мкл К–, в остальные лунки по 40 мкл исследуемых образцов сыворотки/плазмы или предварительно разведенных в РРП в два раза препаратов крови (см. п.5.2.4.2)
3	Инкубировать	40 мин, при температуре (37±1) °С в орбитальном термошейкере, скорость вращения платформы 500 об/мин
4	Промыть	4 раза промывочным раствором
5	Внести	во все лунки по 100 мкл приготовленного рабочего раствора конъюгата-2
6	Инкубировать	20 мин, при температуре (37±1) °С в орбитальном термошейкере, скорость вращения платформы 500 об/мин
7	Промыть	4 раза промывочным раствором
8	Внести	по 100 мкл предварительно приготовленного субстратного раствора (см. п. 5.2.3)
9	Инкубировать	20 мин в защищенном от света месте при температуре от +18 °С до +26 °С
10	Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
11	Измерить	ОП при двух длинах волн – 450 нм (основная) / 620–650 нм (сравнения)

Внимание! Приступать к процедуре проведения анализа только после ознакомления с инструкцией по применению набора.

«РАПИД-НСV-АТ-ИФА» КРАТКАЯ СХЕМА ИФА

Протокол № 2 для комплектов № 2.1, 2.2, 2.3

1	Внести	в лунки МТП по 60 мкл конъюгата-1 непосредственно перед добавлением контрольных и исследуемых образцов
2	Внести	в одну лунку – 40 мкл К+, в две другие – 40 мкл К-, в остальные лунки по 40 мкл исследуемых образцов сыворотки/плазмы
3	Инкубировать	40 мин, при температуре (45±1) °С в орбитальном термощейкере, скорость вращения платформы 700 об/мин
4	Промыть	4 раза промывочным раствором
5	Внести	во все лунки по 100 мкл приготовленного рабочего раствора конъюгата-2
6	Инкубировать	20 мин, при температуре (37±1) °С в орбитальном термощейкере, скорость вращения платформы 700 об/мин
7	Промыть	4 раза промывочным раствором
8	Внести	по 100 мкл готового раствора ТМБ
9	Инкубировать	20 мин при температуре (37±1) °С
10	Внести	по 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку
11	Измерить	ОП при двух длинах волн – 450 нм (основная) / 620–650 нм (сравнения)